

侵袭预服吡喹酮小鼠皮肤的血吸虫童虫形态变化和皮肤细胞反应

肖树华、杨元清、张荣泉¹、张超威 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所², 上海 200025)

提要 小鼠于感染血吸虫尾蚴前 2 h ig 吡喹酮 400-600 mg/kg, 感染后 15 min 至 2 h 分离感染皮肤内的童虫时, 虫的体表已有肿胀、融合、糜烂和空泡变化; 皮肤组织则示有炎细胞增多、肥大细胞脱粒和酸性粘多糖增加, 这些细胞反应对侵入真皮和皮下童虫的杀灭具有意义。

关键词 吡喹酮; 日本血吸虫童虫; 扫描电子显微镜检查; 肥大细胞

日本血吸虫尾蚴在水相中对吡喹酮极为敏感, 而 ig 吡喹酮的小鼠皮肤排泄吡喹酮则可能是药物产生预防作用的主要原因⁽¹⁾。本文系上述研究中有关童虫形态的变化, 和感染皮肤组织的细胞反应的结果。

方 法

药物 吡喹酮由本所合成, 溶于 PEG 400 中, 浓度为 40-60 mg/ml。

血吸虫童虫的分离和观察 取 22-24 g 的♀小鼠, 于一次 ig 吡喹酮 400 或 600 mg/kg 后 2 h 自腹部皮肤接种尾蚴约 300 条, 接种 15 min 至 2 h 内, 剪取腹部感染皮肤, 按文献方法⁽²⁾分离血吸虫童虫。童虫于滴加美蓝后用光镜观察, 或按常规制备扫描电镜标本⁽³⁾, 用 H-300 型扫描电镜观察。

感染皮肤的组织学观察 取上述规格的小鼠 25 只, 一次 ig 吡喹酮 400 或 600 mg/kg, 于药后 2 h 自腹部皮肤感染约 500 条尾蚴。15, 30, 60 及 120 min 后剖取小鼠腹部的感染皮肤, 用 10% 中性福尔马林固定, 每组 2-3

鼠。另取 7 鼠的皮肤作不给药对照、感染对照和 ig 吡喹酮对照。取上述各组皮肤作石蜡连续切片, 厚度为 7 μm, 用 HE、0.1% 甲苯胺蓝或 Alcian 蓝染色, 观察皮肤的组织学、肥大细胞及酸性粘多糖变化。皮肤组织内炎细胞计数系在 16×20 倍光镜下, 以童虫为中心, 在其周围约占视野 1/4 的范围内进行, 未感染对照组则随机取童虫可能侵入皮肤组织的相应部位, 在同样条件下对炎细胞计数, 每组观察 6-20 个切面; 肥大细胞则在童虫周围随机计数 20 个, 每组观察 6 个视野, 共计 120 个, 并记录细胞是否完整或脱粒。

结 果

童虫的形态变化

1. 光镜观察 ig 吡喹酮 400 或 600 mg/kg 达 2 h 的小鼠于感染尾蚴 15 min 至 2 h, 在腹部感染皮肤中死虫数占 66-99%⁽¹⁾。有的死虫呈刀形, 虫体一般有些肿大, 腹吸盘突出, 其体表可查见一个或数个泡状物; 也有的呈葫芦形, 即前端较细长, 后端则因强烈挛缩而粗大、钝圆, 或整个虫体呈椭圆形, 其体表明显肿胀, 并有少量大小不等的泡状物(图 1 A 见铜版图 3), 美蓝着色呈深蓝。感染后 2 h 内, 皮肤中残留少量活虫, 其形态与对照组相仿(图 1 B)。

2. 扫描电镜观察 自感染 2 h 的小鼠皮肤内分离的童虫中, 松弛者较细长, 前端为头器, 腹面有口孔, 腹吸盘居于虫体后部; 收缩者较短粗, 并因肌肉收缩而形成许多环形沟。童虫体表布有许多小棘, 其皮层褶嵴因低平而不明显(图 2 A, 见后铜版图 3)。小鼠于感染前 2 h ig 吡喹酮 400 或 600 mg/kg, 并于感染后

1984 年 12 月 3 日收稿 1985 年 3 月 22 日修回

¹ 上海市卫生局测试中心

² 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心
本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部分支持

Tab 1. Inflammatory cell counts in 1/4 field ($\times 320$) and degranulation of mast cells within 2 h after infection with *Schistosoma japonicum* cercariae in skin of mice treated ig with praziquantel 400 mg/kg 2 h before infection $\bar{x} \pm SD$

Infection	Praziquantel	Time	Section	Inflammatory	Mast cells* (%)	
				cells	Intact	Degranulated
-	-	-	8	4.8 \pm 1.0	16.6 \pm 1.5 (83)	3.4 \pm 1.5 (17)
+	-	2 h	6	6.5 \pm 4.0	15.8 \pm 1.3 (79)	4.2 \pm 1.3 (21)
-	+	4 h	9	10.6 \pm 3.1	15.5 \pm 0.5 (78)	4.5 \pm 0.5 (23)
+	+	15 min	20	11.8 \pm 2.9	10.2 \pm 3.2 (51)	9.8 \pm 3.2 (49)
+	+	30 min	7	14.1 \pm 4.9	9.8 \pm 3.5 (49)	10.2 \pm 3.5 (51)
+	+	1 h	15	13.8 \pm 3.4	12.3 \pm 1.6 (62)	7.7 \pm 1.6 (38)
+	+	2 h	15	18.1 \pm 3.2	10.7 \pm 2.4 (54)	9.3 \pm 2.4 (46)

* 20 mast cells were counted in each of 6 fields.

15 min 至 2 h, 取自皮肤分离的童虫作扫描电镜观察时, 虫的体表变化相仿, 但感染时间长的虫体变化较重一些, 其主要变化为局部或整个皮层肿胀, 皮孔变小或融合成一片, 一些体棘因皮层肿胀而消失, 同时局部体表有糜烂与剥落, 或在虫的体表有许多大小不等的泡状物(图 2 B-D)。

皮肤组织学观察

1. 炎细胞反应(表 1) 正常小鼠的真皮内, 一般可见零星或三、五成群的淋巴细胞, 但鲜有多核细胞。感染对照小鼠皮肤内的童虫周围偶可见到少量炎细胞, 且以淋巴细胞为主, 间或有 1—2 个多核细胞, 同时亦未见童虫的轮廓与内部结构有明显异常。单服吡喹酮的对照小鼠皮肤的炎细胞数与不感染的对照鼠相比, $p < 0.05$ 。小鼠于 ig 吡喹酮 2 h 后感染时, 尾蚴大部分被阻于皮肤的角质层, 在相应部位的真皮内, 可见到相当数量的炎细胞集聚, 但以淋巴细胞居多; 侵入真皮及皮下的童虫甚少, 但在虫的周围均有不同程度的炎细胞浸润, 其数量较感染对照的明显为多, $p < 0.05$, 同时多核细胞数亦随感染后时间的延长而增多, 特别是皮层受损破溃的童虫, 可以被大量以中性粒细胞为主的炎细胞包围(图 3 A, 见后铜版图 4)。

2. 肥大细胞的脱粒(表 2) 正常小鼠的真皮及皮下组织内布有肥大细胞, 呈圆或椭圆

形, 核色淡蓝, 内部结构清晰, 胞浆内含有粗大的紫色颗粒, 极少有脱粒者(图 3 B)。在感染对照或单服吡喹酮对照小鼠皮肤的肥大细胞中, 无或少数有轻度脱粒现象。若小鼠 ig 吡喹酮后再感染, 则肥大细胞脱粒现象明显(图 3 C), 在尾蚴被阻附近的真皮或侵入真皮的童虫周围, 均可见相当数量的肥大细胞脱粒, 有的已完全毁形(图 3 D), 仅在局部有散在的异染颗粒。

酸性粘多糖的变化 正常小鼠的皮肤角质层及棘细胞的细胞间桥内含有少量酸性粘多糖。小鼠感染尾蚴后, 这些部位的酸性粘多糖明显减少或消失。小鼠于 ig 吡喹酮后再感染时则相反, 尤其在感染后 0.5—2 h, 其皮肤角质层的酸性粘多糖含量明显增加。

讨 论

对自 ig 吡喹酮小鼠感染皮肤分离的童虫进行观察的结果表明, 尾蚴侵袭服药宿主皮肤后迅速引起死亡, 其体表亦有广泛而严重的损害。这可能是相当一部分尾蚴在感染时即受到宿主皮肤排泄的吡喹酮作用的结果⁽¹⁾。但是有些尾蚴, 特别是吡喹酮剂量较小时, 可钻入宿主的真皮或皮下, 并被杀死⁽⁴⁾。因此, 在分析吡喹酮预防小鼠感染尾蚴时, 除药物代谢因素外, 宿主因素亦应考虑。对 ig 吡喹酮 2 h 的小鼠, 于接种尾蚴后 15 min 至 2 h 内观察的结

果指出,吡喹酮具有明显刺激皮肤组织的炎细胞增加;同时,在感染后,炎细胞即迅速包围侵入的童虫,且炎细胞进一步增多,特别是中性粒细胞。在尾蚴侵入宿主皮肤的同时,脱粒的肥大细胞数亦明显增多。由于单服吡喹酮时,无或仅有少数肥大细胞有轻度脱粒现象,而服药感染鼠的则反之,因此,这一作用可能是炎细胞与侵入的童虫相互作用的结果。肥大细胞脱粒的增加是否又与毛细血管扩张、通透性增加,以促使更多的炎细胞自血管逸出和聚集至侵入的童虫周围有关,尚待阐明。此外,小鼠ig吡喹酮2h后,其皮肤表皮层的酸性粘多糖即见增加,与前文⁽⁴⁾结果相仿,但酸性粘多糖增加所出现的时间较早,在尾蚴钻入皮肤过程中可能起到屏障作用⁽⁴⁾。初步试验结果

表明,吡喹酮可能具有一定的增加宿主非特异性免疫的作用,并可能在杀灭侵入真皮或皮下组织的童虫中起重要作用。

参 考 文 献

- 1 肖树华、乐文菊、梅静艳。吡喹酮预防小鼠感染日本血吸虫尾蚴的分析。药学学报 1985; 20 : 577
- 2 Clegg JA, Smithers SR. The effect of immune serum on schistosomula of *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. *Int J Parasitol* 1972; 2 : 79
- 3 肖树华、戴志强、张荣泉、薛海筹、邵葆若。日本血吸虫皮层的扫描电镜观察。寄生虫学与寄生虫病杂志 1983; 1 : 23
- 4 杨元清、杨惠中、张超威。吡喹酮对小鼠皮肤内日本血吸虫童虫作用的组织学观察。中国药理学报 1984; 5 : 63

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jul, 7 (4) : 358-360

Morphological alterations of schistosomulae invading the skin of mice treated orally with praziquantel before infection and cellular reaction of the skin

XIAO Shu-hua, YANG Yuan-qing, ZHANG Rong-quan¹, ZHANG Chao-wei
(*Inst Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine*², Shanghai 200025)

ABSTRACT Mice were given intragastrically praziquantel 400-600 mg/kg 2 h before infection with *Schistosoma japonicum* cercariae. The tegument of schistosomulae, recovered from the skin of the medicated mice 15 min to 2 h after the infection, showed swelling, fusion, erosion and vacuolization. An increase in inflammatory cells, a degranulation of mast cells and an accumulation of acid mucopolysaccharides were seen in mouse skin. The results suggest that the cellular reaction in the skin of mice caused by praziquantel plays an important

role in killing the schistosomules invading the skin.

KEY WORDS praziquantel; *Schistosoma japonicum* schistosomulae; scanning electron microscopy; mast cells

¹ Measurement Center of Shanghai Public Health Bureau.

² WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis.

Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR

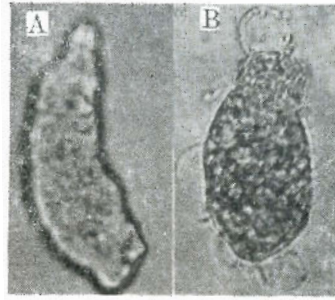


Fig 1. Schistosomulae separated from skin of mice treated ig with praziquantel 400 mg/kg 2 h before infection, $\times 400$. (A) 2 h after infection, showing a surviving schistosomula with normal appearance; (B) 1 h after infection, showing some vesicles along the worm surface.

(See p 358)

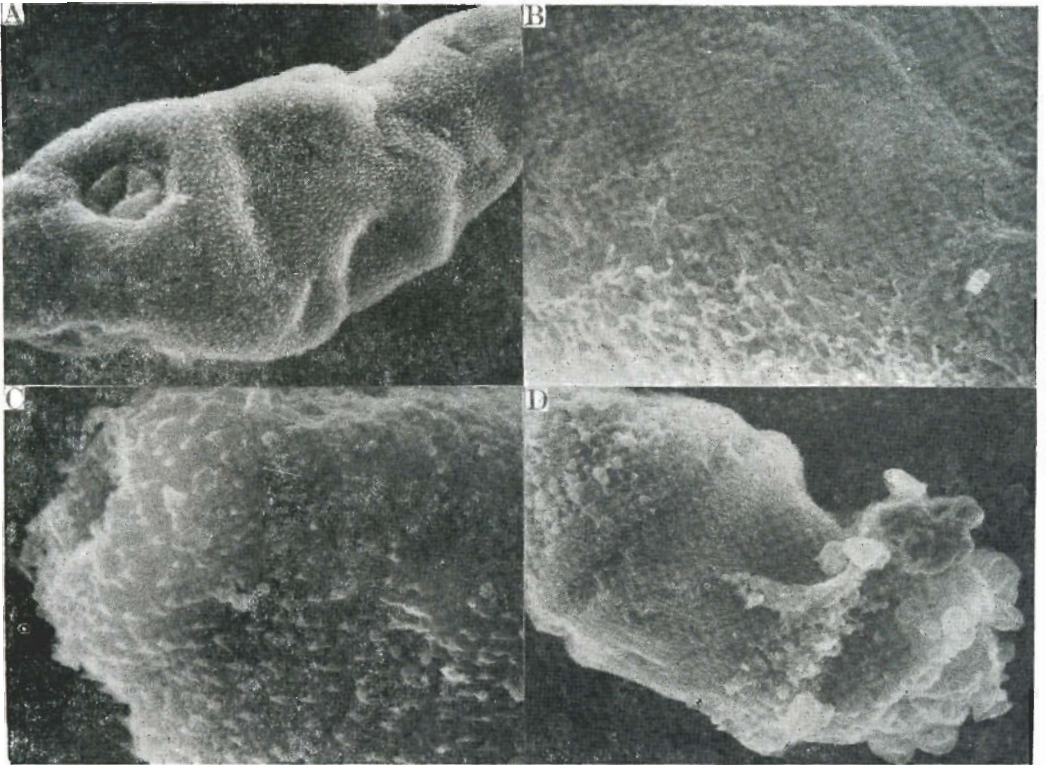


Fig 2. Schistosomulae separated from skin of mice treated ig with praziquantel 400–600 mg/kg 2 h before infection. (A) Control schistosomula $\times 3000$; (B) 15 min after the infection, showing a derangement of spines and peeling of the tegument $\times 7500$; (C) 2 h after infection, showing severe swelling and fusion of the worm tegument $\times 7500$; (D) 2 h after infection, showing severe damage at the cephalic end of the worm and numerous vesicles on the tegument $\times 3000$.

(See p 358)